

Applied: December 28, 1981
Application No.: 56-211436
Laid-Open: July 11, 1983

Title: An anti-tumor agent

Inventors: Yoshiomi (or Yoshitomi) Okuno, Takuji Doi, Hirobumi (or Hirofumi) Arimura, and Ryoichi Naito

Applicant: Midori Jyuji, K.K.

1. Title of Invention

An anti-tumor agent

2. Region of Patent Requested

An anti-tumor agent of which active component is live vaccine from a virus in the Paramyxovirus family.

3. Detailed Explanation

This invention relates to an anti-tumor agent. In further details, it relates to the anti-tumor agent of which active component is live vaccine from a virus in the Paramyxovirus family.

The Paramyxovirus was named since its mode is similar to the Orthomyxovirus. The virion of this virus is a sphere of 150 to 600 nm in diameter and the spiral nucleocap [Note from the Translator-1] is included at the inside of the envelop. Its nucleic acid is a single chain with molecular weight of 4 to 8×10^6 [Note from the Translator-2], which does not become a primer for the protein synthesis. Many members of this virus tend to cause the respiratory system diseases in humans and animals.

The inventors of the present invention have discovered that the live vaccine from the virus in the Paramyxovirus family possesses the anti-tumor effect towards mammals (human, horse, mouse, rat, dog, cattle and so on) and completed the present invention.

The present invention is constructed with the anti-tumor agent of which major component is the live vaccine from a virus in the Paramyxovirus family.

The Paramyxoviruses utilized in the present invention are: Parainfluenza I type, II type, and III type, Newcastle disease virus, mumps virus, measles virus, distemper virus, and Sendai virus. Among them the most desirable example is mumps virus.

Such the live vaccine is manufactured by the known operation, such as the subculture in a growing chicken egg [Note from the Translator-3] yolk sac, and in sheep small intestine [Note from the Translator-3] in order to weaken the toxicity.

YTH TRANSLATION
JP (A) 58-116422

The live vaccine from the toxicity weakened virus may be desirably treated by purification, sterilization, and filtration in order to be supplied for the clinical use.

The anti-tumor agent of the present invention may be taken orally or, more preferably, non-orally and its shape is desirably the existing live vaccine type, particularly the freeze-dried type medicine. The freeze-dried type medicine may be added with the stabilizers such as albumin and gelatin. In addition, the freeze-dried type medicine is usually filled in an ampule and utilized as the injection medicine by dissolving it at the use. For this use, the content per ampule is usually 5 to 100 mg. In the present invention, the dose of the live vaccine depends upon the symptom, the dispensing route, the body weight and so on. However, the dosage should be referenced to the case when the present live vaccine is dispensed to the conventional application.

Then, examples are presented below in order to confirm the anti-tumor effect of the live vaccine which is the major component of the anti-tumor agent in the present invention.

Example 1

Experimental animals employed are the ddY mouse (a body weight of 20 g: a group of 20) and the BDF₁ mouse (a body weight of 18 g: a group of 20). Each of the ddY mouse was inoculated with Ehrlich cancer cells at 20×10^6 and each of the BDY₁ mouse was inoculated with Leukemia L1210 cancer cells at 20×10^5 . After the inoculation, the live vaccine of HVJ virus (Sendai virus) was given to the mouse, by following the dispense methods shown in Table 1, to its abdominal cavity at 15,000 HA units (this value is based on the chicken red blood cell agglutination test results) and the number of the survival dates were observed for each mouse. Here the live vaccine from the HVJ virus was used since it possesses a selective sensitivity towards the mouse. The results are shown in Table 1.

Table 1

Inoculated cancer cells	HVJ virus live vaccine; Dispense method and Survival dates		
	Case I	Case II	Case III
Ehrlich	All survived at least 90 days (observation discontinued)	All survived at least 90 days	18.5 days
Leukemia L1210	Average 25 days	Average 21.5 days	7.2 days

Case I 15000 HA dose once after the cancer inoculation
Case II 1500 HA dose once after the cancer inoculation and the following five consecutive days
Case III No live vaccine given

YTH TRANSLATION
JP (A) 58-116422

As a result, it was confirmed that the live vaccine of the HVJ virus possesses the remarkable anti-tumor effect. The results present that the live vaccine of the other Paramyxovirus family possesses the anti-tumor effect, particularly, that the live vaccine of the mumps virus (which possesses the high sensitivity towards humans and is the human virus corresponding to the relationship between the mouse and the HVJ virus) presents the similar effect to human tumors.

Performance Example 1

The concentration of the live vaccine of the mumps virus (MLV) was controlled to 2×10^5 p.f.u./ml with a 100 ml physiologic salt solution. Then albumin 5% (w/v) and gelatin 0.5 % (w/v) were added, and the mixture was then sterilized and filtered. This filtrate was divided and freeze-dried. The obtained freeze-dried MLV live vaccine possessed the activity of 6.9×10^6 p.f.u./mg [Amendment-4]. The activity of 6.8×10^5 [Amendment-5] p.f.u./mg [Amendment-4] was maintained after storing for one month at -10°C .

p.f.u. (Plaque forming unit): "Virus Experimental", edited by Gakuyu-kai of National Prevention and Sanitation Laboratories, published by Maruzen, (1967).

Example 2

The live vaccine of the HVJ virus was suspended in albumin at 5% (w/v) to prepare 60,000 HA/ml. Then the suspension was sterilized and filtered. The filtrate was divided and frozen at -80°C . The obtained frozen product presented 60,000 HA/ml after 5 years of storage. After being dissolved, the solution presented 60,000 HA/ml after two weeks and 30,000 to 6,000 HA/ml after 3 to 4 weeks of storage at 4°C .

Amendments (Voluntary)

March 31, 1982

- (1) "Paramykusovirus" in page 1 on the 10th line and the last line, and in page 2, the 5th and 7th lines are corrected to "Paramyxovirus".

[Note from the translator - this correction has been incorporated into the translation.]

- (2) "Orthomykusovirus" in page 1 on the 11th line is corrected to "Orthomyxovirus".

[Note from the translator - this correction has been incorporated into the translation.]

- (3) "Leukomia" in page 3 on the 3rd line is corrected to "Leukemia".

[Note from the translator - this correction has been incorporated into the translation.]

- (4) Page 6, Lines 15 and 16 (page 3, the 2nd paragraph)

The unit mg is corrected to ml.

- (5) Page 6, Line 16 (page 3, the 2nd paragraph)

The exponent 10^5 is corrected to 10^6 .

Notes from the Translator

1. Page 205, left column, line 14 (page 1, the second paragraph in Section 3)

The word "nucleocap" in the original Japanese text may be the abbreviation of "nucleocapside".

2. Page 205, left column, line 15 (page 1, the second paragraph in Section 3)

The exponent (superscript) was illegible. In general, all the exponents were very difficult to read in the original text, therefore, those with numbers are still at the best effort basis.

3. Page 205, right column, lines 14, 15 (page 1, the last paragraph)

Two words were almost illegible. The underlined translation is based on the best effort reading.

⑨ 日本国特許庁 (JP)
⑫ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開
昭58—116422

⑤ Int. Cl.³
A 61 K 39/155

識別記号
ADU

庁内整理番号
6408—4C

④ 公開 昭和58年(1983)7月11日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑬ 抗腫瘍剤

⑭ 特 願 昭56—211436
⑯ 出 願 昭56(1981)12月28日
⑰ 発 明 者 奥野良臣
茨木市総持寺1丁目6番地30号
⑱ 発 明 者 土居卓治
京都市左京区松ヶ崎東山17—1

⑲ 発 明 者 有村博文
豊中市上野坂2丁目8番地
⑳ 発 明 者 内藤良一
茨木市上中条1丁目8番25号
㉑ 出 願 人 株式会社ミドリ十字
大阪市東区今橋1丁目15番地の
1
㉒ 代 理 人 弁理士 高島一

明 細 書

1. 発明の名称

抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

パラミクソウイルス属のウイルスの生ワクチンを
活性成分とする抗腫瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、抗腫瘍剤に関する。さらに詳しくは、
パラミクソウイルス属のウイルスの生ワクチンを
主成分とする抗腫瘍剤に関するものである。

パラミクソウイルス (Paramyxovirus) は、
オルトミクソウイルスと形態的に似ているところ
からこの名がある。このウイルスのゲイリオンは
直径150～600 nmの球形で、エンゲロー
プの内側にらせん形ヌクレオキャプをさみ、核
殻は分子量4～8×10⁶の一本鎖で蛋白合成の
調整にならない。このウイルスはヒトや動物の呼
吸器疾患をおこすものが多い。

本発明者は、このようなパラミクソウイルス

属のウイルスの生ワクチンが、哺乳動物（ヒト、
ウマ、マウス、ラット、イヌ、ウシなど）に対し
て抗腫瘍作用を有していることを見出し、本発
明を完成したのである。

本発明は、パラミクソウイルスのウイルスの生
ワクチンを主成分とする抗腫瘍剤からなる。

本発明で使用するパラミクソウイルスとして
は、パラインフルエンザ1型、2型及び3型、ニ
ューキャッスル病ウイルス、ムンプスウイルス、
はしかウイルス、ジステンパーウイルス、センダ
イウイルスなどがあげられ、特に好ましいものと
してはムンプスウイルスがあげられる。

かかるウイルスの生ワクチンは自伝知の操作
にて製造され、たとえば当該ウイルスを発育細胞、
胎児ノウ、羊小脳等にて脱代培養、培養化する方
法などによつて得られる。

培養化されたウイルス生ワクチンは、医療用に
供するために所望により精製、除菌ろ過等の処理
に付される。

本発明の抗腫瘍剤は、一般に経口または好まし

くは非経口投与され、その剤型としては既知の生ワクチンの剤型、特に凍結乾燥剤が好ましい。凍結乾燥剤にはアルブミン、ゼラチン等の安定化剤を添加しても構わない。また、凍結乾燥剤は通常アンプルに充填して用時溶解して注射薬として用いられるが、1アンプル当りの充填量は通常5~100μである。本発明に関して、生ワクチンの投与量は症状、投与ルート、体重その他によつて異なるが、当該生ワクチンを従来用途に投与する場合の投与量に準じて投与される。

次に、本発明抗腫瘍剤の主成分たる生ワクチンの抗腫瘍作用を確認するための実験例を示す。

実験例1

実験動物としてddYマウス(体重約20g:一群20匹)とBDF₁マウス(体重約18g:一群20匹)をもち、それぞれddYマウスにはエールリンヒ細胞20×10⁶個、BDF₁マウスにはロイコミアL1210細胞2×10⁶個接種し、接種後表1に示した投与方法に従つてHVJウイルス(センダイウイルス)の生ワクチン(

特開昭58-116422(2)

HVJウイルスを利用したのk、マウスに対して選択的感受性をもつから)を15000HA単位(ニワトリ赤血球凝集反応試験に基づく値)にてマウス腹腔に投与してマウスの生存日数を観察した。その結果は、表1に示す通りであつた。

(以下余白)

表 1

接種した 細胞	HVJウイルス生ワクチン投与方法・生存日数		生存日数	生存日数
	接種後直後に1回 15,000HAを投与	接種後直後に1回 15,000HAを投与 後5日間投与	生存日数	生存日数
Erlich	全匹 90日以上生存 (観察中止)	全匹 90日以上生存 (観察中止)	全匹 18.5日	7.2日
Leukemia L1210	平均25日	平均21.5日		

かくしてHVJウイルスの生ワクチンは、驚異的な抗腫瘍効果を有するものであることが確認できた。この結果から、他のパラミキソウイルス属の生ワクチンが抗腫瘍性を有すること、就中ムンプスウイルス(人に感受性が高く、マウスのHVJウイルスに相当する人のウイルス)の生ワクチンも人腫瘍に対して同様の効果のあることがわかる。

実験例1

ムンプスウイルス(MLV)の生ワクチンを生理食塩水100μで2×10⁶p.f.u./μの濃度調整し、これにアルブミン5% (w/v)、ゼラチン0.5% (w/v)量を添加し、除菌ろ過を行つた。このろ液を分注し、凍結乾燥した。得られた凍結乾燥MLV生ワクチンは、6.9×10⁶p.f.u./μであり、1ヶ月-10℃保存後も6.8×10⁶p.f.u./μの活性を保持した。
(p.f.u. (Plaque forming unit): 国立予防衛生研究所学友会編「ウイルス実験学、各論」丸善(1967))

実験例2

HVJウイルスの生ワクチンをアルブミン5%
(w/v)に懸濁して60000HA/mlに調整
し除菌ろ過を行った。このろ液を分注し、-80
℃に凍結した。得られた凍結品は5カ年保存にか
いても60000HA/mlであり、一旦溶解した
場合でも4℃で保存において、2週間経過後600
00HA/ml、3~4週間経過後30000~6
000HA/mlであった。

特許出願人 株式会社ミドリ十字
代 理 人 弁理士 高 島 一



特許第58-116422(3)
手 続 補 正 書 (第2号)

昭和58年3月31日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和56年特許第211436号

2. 発明の名称 抗腫瘍剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

氏 名 (社名) 株式会社ミドリ十字

4. 代 理 人

〒541
住 所 大阪市東区船場町2丁目40の3
天理第一ビル7階 電話(06)227-1156
氏 名 高島国際特許事務所
弁理士(8079)高島 一



5. 補正命令の日付

6. 補正により増加する発明の数 全 数

7. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄



8. 補正の内容

- (1) 明細書第1頁下から第9行及び最終行並びに
第2頁第5行及び第7行に「バラミクソ」とあ
るを「バラミキソ」に訂正する。
- (2) 同書第1頁下から第8行に「オルソミクソ」
とあるを「オホソミキソ」に訂正する。
- (3) 同書第3頁下から第3行に「ロイテミア」と
あるを「ロイケミア」に訂正する。
- (4) 同書第6頁第15行及び第16行に「 μ 」と
あるを「 m 」に訂正する。
- (5) 同書第6頁第16行に「 10^6 」とあるを「
 10^8 」に訂正する。